

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM:
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 5 : A61K 37/64, C07K 5/02, 7/02	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 90/09191 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 23. August 1990 (23.08.90)
(21) Internationales Akteurzeichen: PCT/EP90/00219	(81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), JP, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Patent), US.	
(22) Internationales Anmeldedatum: 9. Februar 1990 (09.02.90)	Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenricht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eingreifen.	
(30) Prioritätsdaten: P 39 04 040.2 10. Februar 1989 (10.02.89) DE		
(71)72) Anmelder und Erfinder: SCHRAMM, Wolfgang (DE/DE); Medizinische Kliniken Innenstadt der Universität München, Ziemsenstr. 1, D-8000 München 2 (DE); SCHRAMM, Hans, J. (DE/DE); Max-Planck-Institut für Biochemie, Am Klopferspitz, D-8033 Martinsried (DE).		
(74) Anwalt: DEUFEL, Paul; Isartorplatz 6/IV, Postfach 26 02 47, D-8000 München 26 (DE).		

(54) Title: AGENT FOR INHIBITING SYMMETRICAL PROTEINS, IN PARTICULAR ENZYMES

(54) Bezeichnung: MITTEL ZUR HEMMUNG VON SYMMETRISCHEN PROTEINEN, INSBESONDERE VON ENZYMEN

(57) Abstract

An agent for inhibiting symmetrical proteins, in particular enzymes, in particular for inhibiting HIV protease, consists of structurally symmetrical or almost symmetrical enzyme inhibitors. The molecules of these enzyme inhibitors have a structure with the same symmetry as the molecule of the enzyme to be inhibited or a structure with partly or approximately the same symmetry as the molecule of enzyme to be inhibited, but in any case with sufficient symmetry to ensure inhibition.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Mittel zur Hemmung von symmetrischen Proteinen, insbesondere Enzymen, insbesondere zur Inhibition der HIV-Protease, in Form von strukturell symmetrisch oder fast symmetrisch gebauten Enzyminhibitoren, das sich dadurch auszeichnet, daß diese Enzyminhibitoren solche sind, deren Molekül in bezug auf das zu hemmende Enzymmolekül strukturell gleich-symmetrisch oder teilweise oder annähernd, jedoch zur Hemmung hinreichend, symmetrisch ist.

LEGNUTCH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragstaaten auf den Kopfbogen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäß dem PCT veröffentlichten.

AT	Osterreich	ES	Spanien	ML	Malaysia
AU	Australien	FI	Finnland	MX	Mexiko
BE	Belgien	FR	Frankreich	NL	Niederlande
BR	Brasilien	GB	Großbritannien	NO	Norwegen
CA	Canada	GR	Griechenland	RU	Russland
CH	Schweiz	HU	Ungarn	SE	Schweden
CY	Zypern	IE	Irland	SG	Singapur
DE	Deutschland	IT	Italien	TH	Thailand
DK	Dänemark	JP	Japan	TR	Türkei
EE	Estland	KR	Südkorea	US	USA
EG	Ägypten	LI	Liechtenstein		
ES	Spanien	LU	Luxemburg		
FI	Finnland	MC	Monaco		
FR	Frankreich	MG	Madagaskar		
GB	Großbritannien				
GR	Griechenland				
HU	Ungarn				
IE	Irland				
IT	Italien				
JP	Japan				
KR	Südkorea				
LI	Liechtenstein				
LU	Luxemburg				
MC	Monaco				
MG	Madagaskar				

Vertragsstaaten von Amerika

-1-

Mittel zur Hemmung von symmetrischen Proteinen, insbesondere von Enzymen

1 Die Erfindung betrifft ein Mittel zur Hemmung von symmetrischen Enzymen, insbesondere zur Inhibierung der HIV-Proteinase bzw. Protease, in Form von strukturell symmetrisch oder fast oder teilweise symmetrisch gebauten Enzyminhibitoren.

5 Die spezifische Hemmung von Fremdenzymen (aus pathogenen Bakterien oder Viren) oder von körpereigenen Enzymen in pathologischen Zuständen ist ein wichtiges Anliegen der Medizin, da sie eine schonende Therapie von Erkrankungen erlaubt. Die Erfindung resultiert aus Versuchen, solche spezifischen Hemmstoffe für die Immunschwächekrankheit AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) zu finden. Sie

15 erfolgten an der Proteinase, kurz auch "Protease" genannt, von HIV (Human Immunodeficiency Virus), einem spezifischen Enzym der AIDS verursachenden HI-Viren. Dieses Enzym ist für die Prozessierung der Vorläuferproteine verantwortlich. Es spaltet aus ihnen die fertigen Virusproteine heraus, aus denen dann das komplette Virus assembliert wird. Eine

20 spezifische Hemmung der HIV-Protease sollte die Vermehrung der Viren unterbinden und die Symptome kurieren. Die Strategie der spezifischen Hemmung der Protease ist bei AIDS besonders bedeutungsvoll, da einmal immunologische

25 Hemmansätze das Risiko in sich bergen, die restliche Immunabwehr des Körpers zu zerstören, und andererseits die Therapie unter Verwendung der bisher bekannten Hemmstoffe der Reversen Transkriptase von HIV (z.B. AZT, FLT, Suramin), einem anderen viruspezifischen Enzym, durch schwerste Nebenwirkungen beeinträchtigt ist. Auch die Therapie von AIDS mittels anderer Verbindungen (z.B. der polysulfatierten Polyaaccharide) ist noch nicht überzeugend demonstriert worden oder auch mit schweren Nebenwirkungen belastet.

30 Es gibt zahlreiche Literatur über die HIV-Protease, wozu beispielsweise verwiesen sei auf

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragstaaten auf den Köpfchen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäß dem PCT vorzulegen.

AT	Osterreich	ES	Spanien	ML	Madagaskar
AU	Australien	FI	Finnland	MR	Marokko
BE	Belgien	FR	Frankreich	MY	Malaysia
BR	Brasilien	GB	Großbritannien	NL	Niederlande
CA	Canada	GR	Griechenland	NO	Norwegen
CH	Schweiz	HU	Ungarn	RO	Rumänien
DE	Deutschland	IT	Italien	SD	Sudan
DK	Dänemark	JP	Japan	SE	Schweden
EE	Estland	KR	Südkorea	SI	Slowenien
EG	Ägypten	LT	Litauen	SN	Senegal
ES	Spanien	LU	Luxemburg	TD	Togo
FI	Finnland	MC	Monaco	UG	Uganda
FR	Frankreich	MD	Moldawien	US	Ver. Staaten von Amerika
GB	Großbritannien				
GR	Griechenland				
HU	Ungarn				
IT	Italien				
JP	Japan				
KR	Südkorea				
LT	Litauen				
LU	Luxemburg				
MC	Monaco				
MD	Moldawien				

- 1 L.H. Pearl & W.R. Taylor, Nature (1987) 329, 351-354
I. Katoh et al., Nature (1987) 329, 654-656
C. Debouck et al., P.N.A.S. (1987) 84, 8903-8906
- 5 P.L. Darke et al., B.B.Res.Comm. (1988) 156, 297-303
S.F.J. Le Grice et al., EMBO J. (1988) 7, 2547-2553
M.C. Graves et al., P.N.A.S. (1988) 85, 2499-2453
M. Kotler et al., P.N.A.S. (1988) 85, 4185-4189
S. Billich et al., J.B.C. (1988) 263, 17905-17908
E. Seelmeier et al., P.N.A.S. (1988) 85, 6612-6616
10 E.P. Lillehoj et al., J. Virol. (1988) 62, 3053-3058
L.E. Henderson et al., J. Virol. (1988) 62, 2587-2595
H.-G. Kräusslich et al., J. Virol. (1988) 62, 4393-4397
M. Miller et al., J.Mol.Biol. (1988) 204, 211-212

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine effektivere Beeinflussung von Proteasen (durch die zugehörigen Proteine) zu erreichen, z.B. um eine effektivere Therapie von AIDS und anderen Krankheiten, bei denen Enzyme involviert sind, zu erzielen. Eine hohe Spezifität und ein günstiger therapeutischer Index ist dabei von entscheidender Wichtigkeit.

- 20 Diese Aufgabe wird gelöst durch Enzyminhibitoren, deren Molekül in bezug auf das zu hemmende Enzymmolekül strukturell von gleicher oder annähernd oder teilweise gleicher Symmetrie sind wie das zu hemmende Enzymmolekül.

- 25 Derartige Enzyminhibitoren sind also bezüglich ihrer Symmetrie maßgeschneidert im Hinblick auf die Symmetrie des zu hemmenden Enzyms, das für das Fortschreiten der Krankheit essentiell ist. Diese Inhibitoren werden in an sich bekannter Weise synthetisiert und dann in ebenfalls in der Arzneimitteltechnik üblichen Weise, z.B. i.v. oder oral verabreicht, wobei die Hemmung der Enzyme durch die Verbindungen eine brauchbare Therapie darstellt.

35

- 1 Es wurde festgestellt, daß strukturell symmetrisch gebaute (kurz "symmetrisch" genannte) Enzyminhibitoren besonders gut geeignet sind, um die Vermehrung von HI-Viren durch Hemmung der symmetrischen (aus zwei identischen Halbmolekülen bestehenden) viruskodierten Protease zu hemmen. Es wurde ferner erkannt, daß auch andere symmetrische Enzyme auf diese Weise gehemmt werden können. Symmetrische oder teilweise symmetrische Enzyminhibitoren sind bekannt (z.B. für eine Reverse Transkriptase, über deren Struktur und Symmetrie jedoch noch nichts bekannt war), das vorliegende Wirkungsprinzip der Zueinanderpassung von Symmetrie des Enzyms und Symmetrie des Enzymhemmers jedoch nicht. Symmetrische Inhibitoren auf Peptidbasis sind, soweit bekannt, bisher nicht beschrieben worden und konnten auch nicht erwartet werden, da die natürlichen Substrate von Enzymen, auch von symmetrisch gebauten, nie symmetrisch sind. Der Erfindung liegt die Erkenntnis zugrunde, daß bei solchen Reaktionen (Bindung von unsymmetrischen Substraten an symmetrische Enzyme, bzw. Hemmung von symmetrisch gebauten Enzymen durch unsymmetrische Peptidinhibitoren) entweder nur eine - gut passende - Hälfte des Peptids für die Bindung verantwortlich ist und die andere Hälfte nur eine Hilfsfunktion besitzt oder daß beide Seiten nicht optimal passen, aber zusammen eine für die Hemmung ausreichende Affinität ergeben. Gut passende symmetrische Peptide und Peptidderivate (oder andere symmetrische organisch-chemische Verbindungen) sollten hingegen bei symmetrischen Enzymen allgemein eine stärkere Bindung (und gegebenenfalls Hemmung) vermitteln können als unsymmetrische Peptide.
- 30 Es wurde ferner erkannt, daß aus Untereinheiten bestehende Enzymkomplexe - symmetrische wie unsymmetrische - gehemmt werden können, wenn der Zusammenhalt der einzelnen Untereinheiten durch geeignete Verbindungen gestört wird, so

1 daß entweder eine vollständige oder teilweise Zerlegung oder
eine Labilisierung der Komplexe erfolgt, bzw. die Bildung
der Komplexe oder der für die enzymatische Reaktion
5 richtigen räumliche Struktur oder Konformation vollständig
oder teilweise verhindert wird. Dies kann dadurch erreicht
werden, daß Peptide oder peptidähnliche Verbindungen oder
andere organisch-chemische Verbindungen angeboten werden,
die Aminosäuresequenzen enthalten, oder von solchen
abgeleitet sind oder mit solchen verwandt sind, die in den
10 nativen Enzymen vorkommen und für den Zusammenhalt der für
die Funktion nötigen Tertiär- und Quartärstruktur
verantwortlich sind.

15 Dies gilt auch und vor allem in Hinsicht auf das aktive
Zentrum der Enzymkomplexe, wo relativ kleine Störungen der
Struktur bereits zur Inaktivierung des Enzyms führen können.
Peptide mit Sequenzen der das aktive Zentrum bildenden oder
dieses stabilisierenden Peptidketten (oder Verbindungen mit
20 ähnlicher Struktur) sind daher besonders geeignet, die
Aktivität des Enzyms zu hemmen, indem sie die Struktur
stören oder die Bildung der korrekten räumlichen
Enzymstruktur verhindern. Die hier einsetzbaren Verbindungen
müssen selbst nicht symmetrisch sein, die Wirkung ist aber
bei symmetrischen Enzymen besonders effektiv, da bei diesen
25 mehrere identische Bindungsstellen vorhanden sind und die
Wirkung sich daher je nach Anzahl der Untereinheiten im
Komplex vervielfacht. Dieses Prinzip gilt auch für
nichtsymmetrische, aber aus Untereinheiten zusammengesetzte
Proteine.

30 Die Vorteile sind eine sehr spezifische Hemmung der Proteine
(Enzyme bzw. Proteasen), da es die genauen strukturellen
Eigenheiten der Zielproteine berücksichtigt und die
Eigenschaft der Symmetrie für eine verstärkte Bindung der
35 Hemmstoffe aufgrund der mindestens verdoppelten
Bindungsfläche ausnützt.

1 Bei AIDS - wie auch bei anderen Krankheiten - sollte die
hohe Spezifität und Bindungskraft der Inhibitoren eine
relativ schonende Behandlung erlauben. Dies ist bei AIDS
5 besonders wichtig, da dieses Krankheit eine sehr schonende
Behandlung benötigt, weil AIDS das Immunsystem schädigt und
daher die Anfälligkeit des Körpers gegen Krankheiten aller
Art drastisch zunimmt. Zum anderen wird gerade bei AIDS, das
nicht kausal kuriert werden kann, da die Virus-Nukleinsäure
10 in das Genom eingebaut wird, eine lebenslängliche Therapie
und damit eine sehr schonende und spezifische Behandlung
nötig sein.

15 Ein solches Mittel zeichnet sich insbesondere dadurch aus,
daß das Peptid oder die peptidähnliche Struktur oder die
andere organisch-chemische Verbindung eine zentrale
organisch-chemische Gruppe aufweist, die der Einfachheit
halber M genannt werden soll, an die als Seitenketten Reste
20 X, Y, Z, U, R gebunden sind, welche organische Reste sein
können, insbesondere Aminosäuren oder Aminosäurederivate
oder Monosaccharide oder deren Derivate oder Fettsäurereste
oder ihre Derivate, insbesondere aber Peptide, die jeweils
gleich oder annähernd gleich und in bezug auf die Gruppe M
symmetrisch oder annähernd symmetrisch sind, so daß sich
25 insgesamt eine symmetrische oder annähernd oder teilweise
symmetrische Verbindung ergibt. Der Begriff "Symmetrie" ist
hier im üblichen Sinn der Stereochemie zu verstehen, bezieht
sich bei Proteinen also immer auf eine Drehachse.

30 Somit können durch solche Hemmstoffe Proteine, insbesondere
Enzyme gehemmt werden, wenn sie zumindest bezüglich des
hemmbaren Molekülteils eine lokale Symmetrie besitzen. Dies
sind z.B. Enzyme, die teilweise oder ganz aus gleichen
Untereinheiten bestehen, obwohl sie zusätzliche
35 Untereinheiten besitzen können. Neben HIV-Protease, von der
dies bekannt ist, gibt es auch andere virale Proteine,

1 Membranproteine, Zytokine, Restriktionsenzyme und Multienzymkomplexe, deren Symmetrie entweder bekannt ist oder hinreichend bestimmt werden kann.

5 Die symmetrischen Inhibitoren für die symmetrischen Proteine haben dieselbe Symmetrie wie die zu hemmenden Proteine und bestehen wie erwähnt aus einer zentralen Gruppe M und Seitenarmen, welche der Einfachheit halber im vorliegenden Fall nur mit X bezeichnet werden sollen, so daß sich eine Formel nach dem Schema



ergibt, wobei n die Zähligkeit der Symmetrie des Proteins ist, z.B. "2" bei Proteinen mit 2-zähliger Achse, Symmetrie C_2).

Wie erwähnt, können die Seitenarme bestehen aus Aminosäuren, Peptiden oder Derivaten oder anderen organisch-chemischen Verbindungen, wobei jedoch Peptide unter anderem den Vorteil haben, durch leichte, zum Teil automatisierte Synthese zugänglich zu sein. Im Prinzip sind jedoch z.B. auch Fettsäuren, Kohlehydrate oder sogar anorganische Verbindungen als Seitenarme möglich, wenn sie für das spezielle Enzym passen. Bevorzugt werden vor allem kurze Peptide meist mit 2 bis 4 Aminosäuren pro Seitenarm verwendet.

Die beiden oder auch mehreren Arme müssen zueinander symmetrisch oder annähernd oder teilweise symmetrisch sein, in dem Sinne, daß die Symmetrie des zu hemmenden Proteins, z.B. eine 2-Zähligkeit, sich in dem Inhibitor wiederfindet. Im Beispiel der Dyade muß also beim Inhibitor durch Drehen um die zweizählige Achse ein Seitenarm in den anderen übergeführt werden können.

1 Dies kann z.B. auf folgende Weise erreicht werden:

a) Wenn die Laufrichtung der Peptidketten in den beiden Hälften verschieden ist, dergestalt, daß in einer Hälfte der NH-CO-Vektor zum Zentrum weist, in der anderen Hälfte vom Zentrum weg, dann muß in einer Hälfte durch Verwendung von Aminosäuren entgegengesetzter Chiralität (D statt L, bzw. umgekehrt) ein Ausgleich geschaffen werden. Der so entstandene Inhibitor ist dann bezüglich der Seitenketten noch annähernd symmetrisch, bezüglich der Peptidbindungen allerdings nicht. Dies genügt aber in aller Regel, daß der Hemmer für das zu hemmende Enzym noch hinreichend symmetrisch ist.

b) Wenn nicht alle Aminosäuren oder sonstige Reste des Inhibitors symmetrisch sind, sondern z.B. ein Tyrosin auf einer Seite durch ein Phenylalanin ergänzt wird, die restlichen Aminosäuren aber gleich und komplementär sind, ist immer noch mit einer hohen Hemmaktivität zu rechnen. Solche Hemmstoffe können sogar bezüglich der Löslichkeit, Membrangängigkeit und dergleichen günstiger sein als streng symmetrische Verbindungen. Für die Abweichung sind strukturelle und physikalisch-chemische Parameter wie Größe, Ladung, Hydrophilizität und dergleichen, maßgebend. So ist der Inhibitor

25 Phe-Thr-Ile-M-Leu-Ser-Tyr

bezüglich der genannten Eigenschaften "symmetrischer" als Ala-Arg-Gly-M-Gly-Asp-Ala (ungleiche Ladung, Arg/Asp) oder

30 Gly-Gly-Try-M-Gly-Gly (ungleiche Größe, Try/Gly), da der Unterschied, z.B. zwischen Thr einerseits und Ser andererseits geringer ist als zwischen Arg und Asp oder zwischen Try und Gly.

35

-8-

1 Kleine Abweichungen von der Symmetrie können daher prinzipiell geradezu von Vorteil sein. Es muß nur der Gewinn an Affinität durch die optimale Strukturanpassung (durch Symmetrieanpassung) noch groß genug für starke Bindung sein.

5

Die Zentralen Gruppen haben die Aufgaben,

- a) die Symmetrie des Proteins auf den Hemmstoff zu übertragen,
- b) die für eine gute Bindung mitverantwortlichen Seitenarme im richtigen Abstand und Bindungswinkel zu halten, und
- c) selbst durch gute Einpassung in das Protein, z.B. das aktive Zentrum eines Enzyms, zur guten Bindung des Hemmstoffes und damit zur Hemmung des Proteins beizutragen.

15

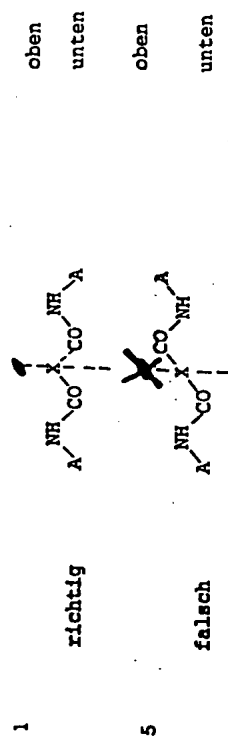
Die Zentralen Gruppen müssen selbst nicht unbedingt symmetrisch sein, z.B. wenn die Seitenarme weitgehend für die Affinität verantwortlich sind. Die Zentrale Gruppe kann chiral sein, z.B. Statin. Wichtig ist, daß die Vermittlung der Orientierung der Seitenarme und der richtigen Abstände optimal ist. Dies ist jedoch für den präparativen Chemiker in Kenntnis der Symmetrie oder eventuell sogar der genaueren Struktur des Enzyms kein Problem. Die Größe der Zentralen Gruppe kann verschieden sein, ebenso ihre chemische Natur, so daß auch anorganische Gruppen wie $-P(O)O^-$ oder auch nur eine Bindung selbst als Zentrale Gruppe gelten kann. Ein Strukturminikry des Substrats oder eines Übergangszustandes einer enzymatischen Reaktion durch den Hemmstoff kann wichtig sein.

30

Ungeeignet sind Zentrale Gruppen, wenn sie zwar die richtigen Seitenketten (entsprechende Reihenfolge und Chiralität der Aminosäuren) im richtigen Abstand anordnen, aber so, daß ein Arm bezüglich der Richtung der Symmetrieachse falsch angeordnet ist, z.B. wenn "oben" und "unten" verkehrt sind.

35

-9-



10 Die folgenden Beispiele zeigen teilweise oder annähernd symmetrische Peptide, die zu einer Hemmung der HI-Viren in H9-Zellen führen.

BEISPIEL 1

- 15 A) H-(D)-Asn-(D)-Leu-(D)-Thr-Gly-OH
- B) t-BOC-L-Leu-NH-CH₂-CHOH-CH₂-COOH
- C) Cl-CH₂-CO-Gly-Ala-Phe-Pro-Ile-Ala-OH
- D) CH₃CO-Thf-Leu-Asn-NH-CH₂-CHOH-CH₂-NH-Asn-Leu-Thr-COCH₃
- 20 E) Ala-Asp-Thr-β-Naphthylamid
- F) CH₂-(-CH₂CO-(D)-Asn-(D)-Leu-(D)-Thr-Gly-OH)₂

25 Die Verbindungen (a), (b), (c), (d) wurden bei Molaritäten getestet, die von 0,1 µM bis 1000 µM reichten.

Infektivitätsversuche wurden wie folgt durchgeführt: Eine HIV-1 Suspension mit einem Gehalt an 10² infektiösen Einheiten wurde auf 5 x 10⁶ H9 Zellen in einem Volumen von 1 mm für eine Zeitspanne von 2 h bei 4°C absorbiert. Nach dieser Zeitspanne wurden 9 ml an Gewebekulturmiedium, welches die geeignete Inhibitor-Konzentration enthielt, zugegeben.

30

Das Medium wurde jeden Tag gegen frisches Medium plus Inhibitor ausgetauscht. Zwei Kontrollkulturen ohne Inhibitor wurden mitangesezt, eine, um den normalen Grad der Virusreplikation zu bestimmen sowie eine Kultur mit

35

-10-

1 Inhibitor ohne Virus, um zu bestimmen, ob diese Substanzen für H9 Zellen zytotoxisch sind. Es wurde kein zytotoxischer Effekt beobachtet wie sich durch das Anfärben der Zellen mit Trypanblau zeigte. Die Menge an Virusantigen, die von den infizierten Zellen erzeugt wurde, wurde täglich 8 Tage lang durch Elisa gemessen, wobei HIV-1 Antigen in Gewebekulturmedium bestimmt wird. Nach dieser Zeitspanne wurden die Zellen pelletisiert, im Medium ohne Inhibitor gewaschen und weiter im Medium ohne Inhibitor inkubiert. Die Antigenproduktion wurde am Tag 9 und 12 (d.h. 1 und 3 Tage nach Entfernung des Inhibitors) gemessen. An den Tagen 7, 8, 9 und 12 wurde die Virusproduktion auch durch Reverse Transkriptasebestimmung von Überständen des Zellkulturmediums gemessen.

15

Dabei ergab sich eine deutliche Hemmung der HIV 1 Replikation wie die beigefügten Tabellen 1 bis 5 für die Verbindungen (a) bis (d) zeigen.

20 Bei den folgenden Beispielen bedeuten R und R' Peptidreste, vorzugsweise solche bis maximal 9 Aminosäuren, insbesondere mit 2 bis 4 Aminosäuren, oder andere kurze organisch-chemische Reste, beispielsweise $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO-}$ mit $n = 1$ bis 10, $\text{CH}_3\text{CO-}$, H- , $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}$, $-\text{OR}$; X bedeutet kleine Aminosäurereste, wie Gly, Ala, Ser, oder andere kleine Reste, A und B sind Aminosäuren oder andere organische Reste. Dies gilt für alle folgenden Beispiele, wenn nichts anderes angegeben ist.

30

BEISPIEL 2

R-(D)-Ser-(D)-Gln-(D)-Leu-(D)-Phe-(D)-Asn-(D)-Gln-OR'

Acetyl-(D)-Asp-(D)-Leu-(D)-Phe-(D)-Leu-(D)-Ile-(D)-Lys-NH₂

35

-11-

1 Acetyl-(D)-Ala-(D)-Val-(D)-Pro-(D)-Phe-(D)-Asn-(D)-Arg-NH₂
 5 Acetyl-(D)-Gln-(D)-Val-(D)-Ile-(D)-Pro-(D)-Tyr-(D)-Asn-(D)-Gln-(D)-Arg-NH₂

10 Solche Verbindungen können bei sonst sehr substratähnlicher Struktur anstelle der spaltbaren -CONH-Peptidbindung eine nicht oder schwer spaltbare -NHCO-Bindung, also mit umgekehrter Richtung, besitzen, z.B. unter Verwendung des retro-inverso-Prinzips unter gleichzeitiger Umkehrung von Laufrichtung der Sequenzen und der Konfiguration der Aminosäuren, z.B. nach den Formeln
 15 (D)-A-NHCO-(D)-B-NHCO-(D)-C-NHCO-(D)-D-, anstelle eines natürlichen Substratpeptids der Formel (L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-(L)-D-, wobei die Paare D und A, bzw. C und B, symmetrisch sein oder wenigstens eine strukturelle Ähnlichkeit (bezüglich Hydrophobizität, Ladung, Größe der Seitenketten etc.) zeigen sollen.

20

BEISPIEL 3Acetyl-(D)-Arg-(D)-Ala-(D)-Gln-(D)-Leu-NH-CO-CH(C₄H₉)-CO-(L)-Gln-(L)-Ala-(L)-Arg-NH₂

25

Acetyl-(L)-Arg-(L)-Ala-(L)-Asn-(L)-Leu-NH-CH₂-CH(C₃H₇)-CO-(D)-Asn-(D)-Gln-(D)-Leu-NH₂

30 Acetyl-(D)-Arg-(D)-Ala-(D)-Gln-NH-CH₂-CO-CH₂-CO-(L)-Gln-(L)-Ala-(L)-Arg-NH₂

Acetyl-(D)-Arg-(D)-Ala-(D)-Asn-Stat-in-(L)-Asn-(L)-Ala-(L)-Arg-NH₂

35

- 1 Acetyl-(L)-Arg-(L)-Ala-(L)-Gln-StatIn-(D)-Gln-(D)-Ala-(D)-Arg-OH
- 5 Fluoracetyl-(L)-Arg-(L)-Ala-(L)-Asn-StatIn-(D)-Asn-(D)-Ala-(D)-Arg-NH₂

Acetyl-(D)-Arg-(D)-Ala-(D)-Leu-StatIn-(L)-Leu-(L)-Ala-(L)-Arg-NH₂

- 10 Acetyl-(D)-Leu-(D)-Arg-(D)-Asn-NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-CO-(L)-Asn-(L)-Arg-(L)-Leu-NH₂

In den verwendeten Verbindungen kann ein Teil der Peptidkette aus Aminosäureresten einer räumlichen Konfiguration bestehen, während die andere Hälfte aus Aminosäuren der umgekehrten Konfiguration besteht, dergestalt, daß eine symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend des in den Formeln

- 20 (L)-C-(L)-B-(L)-A-(D)-A-(D)-B-(D)-C
oder

(D)-C-(D)-B-(D)-A-(L)-A-(L)-B-(L)-C
ausgedrückten Prinzips, wobei A, B, C Aminosäurereste darstellen. Hierbei ist darauf zu achten, daß durch Einfügen einer geeigneten zentralen Gruppe X (im Zentrum) das auf Seite 8 unten dargelegte Prinzip gewahrt ist.

Auch hier ist bei Hemmung für Protease die Enzymhemmung dadurch zu erreichen, daß die Enzymhemmer anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine nichtspaltbare Bindung besitzen, wie dies etwa bei Beispiel 7 erläutert ist,

sowie daß in den verwendeten Verbindungen an eine nichtsymmetrische zentrale organisch-chemische Gruppe zwei

35

- 1 Statinreste oder zwei verwandte Verbindungen so angeheftet werden, daß insgesamt eine räumlich-symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, wie dies auch für Beispiel 4 erläutert ist,

5

und daß in den verwendeten Verbindungen an eine zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei gleichen Substituenten zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit gleicher oder annähernd gleicher und sich entsprechender Aminosäuresequenz und gleicher Konfiguration bzw. Chiralität, aber mit umgekehrter Laufrichtung der

10

Peptidbindungen so angeheftet werden, daß insgesamt eine räumlich-symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, wie dies auch für Beispiel 7 gezeigt ist,

15

ferner, daß wie auch in Beispiel 8 gezeigt, in den verwendeten Verbindungen an eine zentrale

20

organisch-chemische Gruppe mit zwei unterschiedlichen Substituenten zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit gleicher oder annähernd gleicher und sich entsprechender Aminosäuresequenz mit gleicher Laufrichtung der

25

Peptidbindungen, aber mit umgekehrter Chiralität der Aminosäuren so angeheftet werden, daß insgesamt eine räumlich-symmetrische oder annähernd oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht,

30

und schließlich, daß in den verwendeten Verbindungen an eine symmetrische oder teilweise symmetrische oder annähernd symmetrische Verbindung chemisch reaktive Reste, z.B. entsprechend den Formeln XCH_2CO- , N_2CHCO- , $NC-CH_2-CO-$, RO_2C- , $CH_2=CR-$, RO_nS- , $HS-$, $RO(H_2N)C^+-$ so angeheftet werden, daß die Verbindungen von Zielenzym reversibel oder irreversibel gebunden werden können. Hier

35

-14-

1 bedeutet X Halogen, R ist ein Esterrest mit 1 bis 12 Kohlenstoffatomen, aber vorzugsweise ein C_1-C_3 -Rest, oder ein Phenyl- oder Benzylrest und n = 1 bis 3.

5 BEISPIEL 4

R-Stat-in-X-Stat-in-R' oder

CH_3CO -Stat-in-X-Stat-in- NH_2 oder

Isovaleryl-Ser-Ser-Stat-in-Ala-Stat-in- NH_2 oder

Acetyl-Ser-Stat-in-Gly-Stat-in- NH_2 oder

15 Acetyl-Stat-in-Ala-Stat-in- NH_2 oder

Fluoracetyl-Stat-in-Ala-Stat-in- NH_2 oder

Acetyl-Stat-in-Ala-Stat-in- $NH-CO-CH_2-CN$;

20 ferner: Kombinationen von (3S,4S)-, (3R,4R)-, (3R,4S) und (3S,4R)-Stat-in in obiger oder ähnlicher Weise;

25 ferner: Modifizierung von R entsprechend der Sequenz von Papstatin A, den Bindungssequenzen in typischen Substraten von HIV-Protease, etc..

30 In den verwendeten Verbindungen sind an eine nichtsymmetrische zentrale organisch-chemische Gruppe zwei Statinreste oder zwei verwandte Verbindungen so angeheftet, daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht.

35

-15-

1 BEISPIEL 5

R-Asp-Thr-Gly-R' oder

5 R-Asp-Ser-Gly-R' oder

R-A-Asp-Thr-Gly-B-R' oder

Acetyl-Ile-Asp-Thr-Gly-Ala- NH_2 oder

10 Isovaleryl-Ile-Asp-Ser-Gly-Ala- $NH-(CH_2)_3-CH_3$ oder

Acetyl-Asp-Thr-Gly-Ala- NH_2

15 Chloracetyl-Asp-Thr-Gly-Ala- NH_2

Acetyl-Ile-Gly-Arg-Asn- NH_2

Acetyl-Ile-Gly-Gly-Arg-Asn-Ile- NH_2

20 Die verwendeten Verbindungen enthalten die Aminosäuresequenz Asp-Thr-Gly oder Asp-Ser-Gly oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste, die im Zielenzym zur Bildung eines funktionellen aktiven Zentrums aus gleichen oder entsprechenden Teilen verschiedener Untereinheiten der komplexen Enzyme beitragen oder verantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder die Stabilität des aktiven Zentrums beeinträchtigen oder die Bildung verhindern können.

30 BEISPIEL 6

Acetyl-Thr-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-Leu-Val- NH_2 oder

35

-16-

- 1 Fluoracetyl-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-Leu-NH₂ oder
Isovaleryl-Trp-Gln-Arg-Pro-NH₂ oder
- 5 H-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-NH₂ oder ähnliche Verbindungen
- Die verwendeten Verbindungen enthalten im Falle der HIV-Protease als Zielenzym die Aminosäuresequenz Thr-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-Leu-Val oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste oder Teile daraus, die für die Assoziation der Untereinheiten der HIV-Protease und die Bildung oder den Zusammenhalt des funktionierenden Enzymkomplexes mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzymkomplexe beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität verringern oder ihre Bildung verhindern können.
- 15

BEISPIEL 7

20

- Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-(CH₂)₃-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl
- Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-O-CH₂-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl
- 25 Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-CHOH-CH₂-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl
- Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-NH-CH₂-NCH₃-Asn-Leu-Arg-Acetyl
- 30 H-(D)-Leu-(D)-Leu-(D)-Asn-NH-CHF-CO-CHF-NH-(D)-Asn-(D)-Leu-(D)-Arg-H

Bei den verwendeten Verbindungen wird im Falle von Proteinasen als Zielenzym die Enzymhemmung dadurch erreicht, daß sie anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine nichtspaltbare Bindung besitzen, z.B. nach den Formeln

35

-17-

- 1 -S-S-, -S-, -O-,
-CO-CHR-CH(OH)-CHR'-CO-, -NR-NR'-,
-NH-CHR-CH(OH)-CHR'-NH-, -NH-CF₂-CO-CH₂-NH-,
5 -NH-CF₂-CO-CF₂-NH-, -CO-(CH₂)₃-CO-,
-NH-(CH₂)₃-NH-, -CO-CH₂-O-CH₂-CO-, -N(OR)-, -NR-,
-P(O)_nOH-, -CO-CHR-CO-,
-NH-CH₂-O-CH₂-NH-, -CO-CH₂-NR-CH₂-CO-,
-N(C₅H₁₁)-CF₂-CO-CF₂-N(C₅H₁₁)-,
10 -N(C₄H₉)-CH₂-CH(OH)-CH₂-N(C₄H₉)-,
-(2S,3S)-NH-CH(C₁₁H₂₃)-CH(OH)-CH₂-NR-,
oder ähnliche Verbindungen, wobei R und R' Wasserstoff oder Aryl- oder Alkylreste bis C₁₂ bedeuten und n die Zahl 1 oder 2 bedeutet.
- 15 In den verwendeten Verbindungen werden an eine zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei gleichen Substituenten zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit gleicher oder annähernd gleicher oder sich entsprechender Aminosäuresequenz und gleicher Konfiguration, aber mit umgekehrter Laufrichtung so angeheftet, daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend den Formeln
- 25 (L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-NHCO-(L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A oder
(L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-M-CONH-(L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C oder
(L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-NHCO-(L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A oder
30 (L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-CONH-(L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C oder
(L)-A-CONH-(D)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-NHCO-(L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A oder
(L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-M-CONH-(L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(D)-C oder
- 35

-18-

- 1 (L)-B-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-NHCO-(L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A oder
(L)-B-NHCO-(L)-A oder
(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-M-CONH-(L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C,
wobei A, B, C Aminosäurereste und M eine zentrale
organisch-chemische Gruppe (Beispiele s.o.) darstellen.

BEISPIEL 8

10 Acetyl-(L)-Arg-(L)-Leu-(L)-Asn-NH-(CH₂)₃-CO-(D)-Asn-(D)-Leu-(D)-Arg-NH₂

15 Acetyl-(L)-Arg-(L)-Leu-(L)-Asn-NH-CH₂-CHOH-CH₂-CO-(D)-Asn-(D)-Leu-(D)-Arg-NH₂

20 H-(L)-Leu-(L)-Asn-NH-CH₂-CO-CF₂-CO-(D)-Asn-(D)-Leu-(D)-Arg-NH₂

H-Val-Tyr-[CH₂-NH]-CH₂-(CH₂-NH)-(D)-Tyr-(D)-Val-OCH₃
(reduziertes -Tyr-Gly-D-Tyr-)

Zusätzlich zu den in oben in Beispiel 7 gezeigten Möglichkeiten werden hier in den verwendeten Verbindungen an eine zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei unterschiedlichen Substituenten zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit gleicher oder annähernd gleicher oder sich entsprechender Aminosäuresequenz, aber mit umgekehrter Laufrichtung und Konfiguration der Aminosäuren, aber gleicher Laufrichtung der Peptidbindungen, so angeheftet, daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend den Formeln
(L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-CONH-(D)-C-CONH-(D)-B-CONH-(D)-A oder
(L)-A-CONH-(D)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-CONH-(D)-C-CONH-(D)-B-CONH-(D)-A oder

-19-

- 1 (D)-A-CONH-(D)-B-CONH-(D)-C-CONH-M-CONH-(L)-C-CONH-(L)-B-CONH-(L)-A, oder
(D)-A-NHCO-(D)-B-NHCO-(D)-C-NHCO-M-NHCO-(L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(D)-A
5 wobei A, B, C Aminosäurereste und M eine zentrale Gruppe darstellen.

Bei den verwendeten Verbindungen wird \bar{M} Falle von Proteinasen als Zielenzym die Enzymhemmung dadurch erreicht, daß sie anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine nichtspaltbare Bindung besitzen, z.B. nach den Formeln
-CH₂-NH-, -CH(OH)-NH-, -CO-N(CH₃)-, -P(O)(n)-NH-,
-(3S,4S)-4-Amino-3-hydroxy-6-methylheptansäure- (Statiln),
-(3S,4S)-3-Hydroxy-4-amino-5-phenylpentansäure (AHPPA),
oder ähnliche Verbindungen, wobei R und R' Wasserstoff oder Aryl- oder Alkylreste bis C₁₂ bedeuten und n die Zahl 1 oder 2 bedeutet.

BEISPIEL 9

20 NH₂-Arg-Leu-Asn-CO-(CH₂)₃-CO-Asn-Leu-Lys-NH₂

H₂N-(D)-Leu-(D)-Asn-CO-(CH₂)₃-CO-(D)-Asn-(D)-Ile-NH₂

25 NH₂-Leu-Asn-CO-CH₂-NH-CH₂-CO-Asn-Leu-Arg-OR

NH₂-Arg-Leu-Asn-CO-CH₂-CHOH-CH₂-CO-Asn-Leu-Arg-NH₂

30 Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-NH-CH₂-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl

H-Leu-Leu-Asn-NH-CHP-CO-CHP-NH-Asn-Leu-Arg-H

Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-O-CH₂-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl

35 Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-NH-Asn-Leu-H

-20-

1 H-(L)-Arg-(L)-Ile-(L)-Asn-NH-CH₂-CO-
(D)-Gln-(D)-Leu-(D)-Arg-OH

5 H-Ala-Ala-Stat-in-(U)-Val-(D)-Val-OCH₃

10 Zusätzlich zu den in den beiden vorhergehenden Beispielen angegebenen Möglichkeiten können hier in den verwendeten Verbindungen an eine zentrale organisch-chemische Gruppe zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit unterschiedlichen Aminosäuresequenzen, aber mit ähnlicher bzw. entsprechender Verteilung von Resten mit gleicher elektrischer Ladung oder gleicher oder ähnlicher Hydrophobizität oder Hydrophilizität oder Größe der Seitenketten oder einer anderen physikalisch-chemischen Eigenschaft so eingebaut werden, daß insgesamt eine räumlich annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend den Formeln

15 (L)-C-(L)-A⁺-CONH-M-CONH-(D)-B⁺-(D)-C, oder
(L)-C-(L)-A⁺-CONH-M-NHCO-(L)-B⁺-(L)-C, oder
(L)-C-(L)-A⁺-CONH-M-CONH-(D)-B⁺-(D)-D, oder
(L)-C-(L)-A⁺-CONH-M-CONH-(D)-B⁺-(L)-C, oder
(L)-D-(L)-AX-CONH-M-NHCO-(L)-BX-(L)-C, oder
(L)-C-(L)-AX-CONH-M-CONH-(D)-BX-(D)-C, oder
(L)-C-(L)-AX-CONH-NHCO-(L)-BX-(L)-C, oder
(L)-C-(L)-A⁺-HNCO-CONH-(D)-B⁺-(D)-D,
wobei A⁺, B⁺ = zwei verschiedene Aminosäurereste mit gleicher Ladung, M eine zentrale organisch-chemische Gruppe und AX, BX zwei verschiedene Aminosäuren mit vergleichbar großen hydrophoben oder hydrophilen Seitenketten sind.

30 Abschließend seien noch einige Beispiele für zentrale Gruppen (M), für Seitenketten sowie für ganze Inhibitoren gezeigt:

35

-21-

1 Beispiele für zentrale Gruppen:

5 -NH-CH(OH)-CH(OH)-NH-, -O-, Statin,
-NH-CH(CH₂C₆H₁₁)-CH(OH)-CH₂-NH-,
-NH-CH(C₄H₉)-CO-CH(C₄H₉)-NH-,
-NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-NH-,
(1S,3S)-NH-CH(Cyclohexylmethyl)-CO-CH(Cyclohexylmethyl)-NH-, 2-Alkylstatin, -CH₂-, Ethylenepoxid, Thiophen,

10 Beispiele für Seitenketten:

Ac-Ser-Gln-Asn-Tyr-, H-His-Pro-His-Tyr-,
Ac-Arg-Ser-Gln-His-Cha-, H-Ala-Ala-

15 Beispiele für ganze Inhibitoren:

tBoc-Arg-Ser-Gln-His-NR-CH₂-CH(OH)-CH₂-NR-His-Gln-Ser-Arg-
tBoc,
(R=CH₂-CH(CH₃)₂, -CH₂-C₆H₁₁ etc.)

20 H-His-Pro-His-NH-CHR-CH(OH)-CH₂-NH-His-Pro-His-H
(R=CH₂-C₆H₁₁ etc.)

25 Ac-His-Pro-His-NH-CHR-CH(OH)-CH₂-CO-NH-D-His-D-Gln-OCH₃
(R=CH₂-C₆H₁₁ etc.)

Ac-Arg-Ser-Gln-Asn-
-NH-CH(CH₂C₆H₁₁)-CO-CH(CH₂C₆H₁₁)-NH-
-Asn-Gln-Ser-Arg-Ac

30 (Zentrale Gruppe: 1S,3S; statt CO auch -CH(OH)-, -CO-CO-,
-CH(OH)-CH(OH)-, Furan, Ethylenepoxid etc.)

tBoc-His-Pro-Phe-His-Leu-Stat-in-D-His-D-Phe-D-Pro-D-His- tBoc

35

- 1 Ein Verfahren zur Inhibierung von Proteasen, z.B. HIV-Protease durch bestimmte Peptide besteht, kurz skizziert, darin, daß man
- 5 1. die Symmetrie des zu hemmenden Enzyms bestimmt,
2. die Sequenz eines guten Substrats oder eines hemmenden Peptids auswählt und
3. die dem Symmetriezentrum am nächsten liegenden Aminosäuren feststellt,
- 10 4. ein solches, die Bindung vermittelndes Peptid an diesen Aminosäuren durch chemische Synthese so mittels einer zentralen Gruppe verknüpft, daß ein hinreichend symmetrisches Peptid entsteht,
5. wobei man eine solche zentrale Gruppe wählt, daß die sich entsprechenden Aminosäuren im richtigen Abstand zu Mitte stehen,
- 15 6. mittels Computer aided molecular design die gute Paßform überprüft und die genaue Einhaltung der Symmetrie im Inhibitor feststellt und
7. die Hemmaktivität überprüft, insbesondere wenn die Strukturkoordinaten nicht bekannt sind. In diesem Fall wird die Sequenz der Seitenarme und die Struktur der zentralen Gruppe durch trial and error über die Hemmaktivität optimiert.
- 25 Die chemische Herstellung solcher Verbindungen ist an sich bekannt, ebenso ist die Verabreichung der Verbindungen an sich bekannt, so daß der Fachmann hier auf übliche und wohlbekannte Arbeitsweisen zurückgreifen kann.
- 30 Abschließend seien noch einige bevorzugte Ausführungsformen hinsichtlich Hemmverbindungen angegeben:

Die verwendeten Verbindungen bestehen vorzugsweise aus Peptiden oder peptidanalogen Strukturen oder aus

- 1 Verbindungen, welche Peptide oder peptidanaloge Strukturen enthalten oder von solchen Strukturen abgeleiteten Verbindungen bestehen, wobei z.B. folgende symmetrische oder teilweise symmetrische Verbindungen in Betracht gezogen werden:
- 5 X-Y-Z-M-Z-Y-X, Z-M-Z, X-Y-Z-Z-Y-X, X-Y-Z-M-Z-Y', X-U-Y-X-Z-Z-X-Y'-X, Z-Z-Y-R, R-U-X-Y-Z-M-Z, oder auch nur M, wobei X, Y, Z, U, R organische Reste, insbesondere Aminosäuren oder Derivate davon, Monosaccharide oder Derivate, Fettsäurereste oder Derivate, sind, M die zentrale organisch-chemische Gruppe darstellt und die beiden Strukturen Y, die zu beiden Seiten der zentralen Gruppe stehen, strukturell oder in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften ähnliche Verbindungen sind, was zusätzlich
- 10 oder stattdessen auch für die anderen genannten Gruppen X, Z, U oder R gelten kann. Bei guter Passung kann eine symmetrische oder fast symmetrische Gruppe M zur Hemmung ausreichen, z.B. ein Dipeptidanalogen, wie es auf Seite 20, Zeile 18-20 für die Gruppe M von -NH-... bis ...-NH- gezeigt ist.
- 20 Die Voraussetzung zur Bindung der verwendeten Verbindungen an das Zielenzym kann z.B. dadurch geschaffen werden, daß in ihnen typische Spaltsequenzen oder Bindungssequenzen der natürlichen Substrate oder mit ihnen verwandten Strukturen oder Strukturen dieser Art verwendet werden, die so modifiziert wurden, daß sie dem Zielenzym nicht mehr als Substrat dienen und als Inhibitoren wirken. In den verwendeten Verbindungen können die Voraussetzungen zur Hemmung der Zielenzyme auch dadurch erreicht werden, daß Substrate oder substratähnliche Verbindungen so modifiziert werden, daß sie anstelle der enzymatisch veränderbaren Stellen nicht mehr veränderbare Stellen tragen und daher als Inhibitoren wirken.
- 25 30 35

1 Eine bevorzugte Gruppe von Hemmverbindungen im Falle von Proteinasen als Zielenzym haben anstelle der spaltbaren Peptidbindungen ein Dipeptidanalogen mit reduzierter Peptidbindung oder eine andere ähnliche Verbindung mit nichtspaltbarer Bindung und gleicher oder ähnlicher Länge wie ein Dipeptid und wirken so für das Zielenzym als Inhibitoren. Die verwendeten Verbindungen können im Falle von Proteinasen als Zielenzym anstelle der spaltbaren Peptidbindung Statin oder ein Derivat des Statins oder eine verwandte oder ähnliche, nichtspaltbare Verbindung mit gleicher oder ähnlicher Länge wie ein Dipeptid besitzen. Sie können aber auch im Falle von Proteinasen als Zielenzym anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine phosphorhaltige nichtspaltbare Verbindung mit gleicher oder ähnlicher Länge wie ein Dipeptid besitzen, wie z.B. Phosphonsäureamide. Statin und ähnliche Dipeptidanaloga stellen selbst bereits annähernd symmetrische Verbindungen dar (Symmetrie nahe am -OH).

20 Bei Proteinasen als Zielenzym kann in den Hemmverbindungen durch Einführung einer längeren Aminosäure oder einer anderen organisch-chemischen Gruppe die Stelle der spaltbaren Peptidbindung im Vergleich zu der Lage der Spaltstelle in einem guten Substrat räumlich verschoben werden, wodurch die Verbindung für das Zielenzym als Inhibitor wirkt. Es kann z.B. in den verwendeten Verbindungen die Stelle der spaltbaren Peptidbindungen durch Einführung von Statin oder einer verwandten organisch-chemischen Gruppe oder einer anderen Gruppe im Vergleich zu der Bindungslage eines guten Substrats räumlich verschoben werden.

30 In den verwendeten Verbindungen kann die Symmetrie oder teilweise Symmetrie der Verbindungen dadurch erreicht werden, daß in den Verbindungen zentrale organisch-chemische

35

1 Gruppen vorhanden sind, die als Zentren der Symmetrie oder der annähernden Symmetrie wirken, oder die verwendeten Verbindungen besitzen zentrale organisch-chemische Gruppen mit zwei identischen oder in ihrer Funktion äquivalenten organischen Substituenten, die mit zwei identischen oder teilweise identischen Peptiden oder peptidähnlichen Verbindungen so reagieren können, daß eine symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend den Formeln

10 C-CONH-B-CONH-A-CONH-M-NHCO-A-NHCO-B-NHCO-C
oder

C-NHCO-B-CHCO-A-NHCO-M-CONH-A-CONH-B-CONH-C,
wobei A, B, C Aminosäurereste und M eine zentrale organisch-chemische Gruppe darstellen. Die verwendeten

15 Verbindungen können eine symmetrische oder annähernd symmetrische zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei identischen oder in ihrer Funktion äquivalenten organischen Substituenten besitzen, die in der Länge mindestens einem Dipeptid entsprechen und mit Peptiden oder peptidähnlichen Verbindungen so reagieren können, daß eine symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht. Falls das oben erstgenannte Formelbeispiel (...NH-M-NH-...) einem guten Inhibitor entspricht, muß im zweiten Beispiel (...CO-M-CO-...) die Chiralität der verwendeten gleichen Aminosäuren (A,B,C) umgedreht werden ("D"-Formen), um eine ähnlich gute Passung und damit Hemmung zu erreichen.

30 Für den Fall einer zentralen organisch-chemischen Gruppe mit zwei ungleichen Substituenten, an die zwei gleiche oder annähernd gleiche oder sich entsprechende Peptide oder peptidähnliche Verbindungen angeheftet sind, seien als Beispiele die Formeln

C-CONH-B-CONH-A-CONH-M-CONH-A-CONH-B-CONH-C
oder

35

1 C-NHCO-B-NHCO-A-NHCO-M-NHCO-A-NHCO-B-NHCO-C
genannt, wobei A, B, C Aminosäurereste und M die zentrale
organisch-chemische Gruppe sind. Die symmetrische
Sequenzanordnung allein reicht im allgemeinen nicht aus für
die Konstitution eines hinreichend "symmetrischen"
5 Inhibitors, wie nachstehend noch erläutert wird (s.a. Seite
8).

Die verwendeten Verbindungen können auch zwei Statinreste
oder zwei entsprechend verwandte Verbindungen mit oder ohne
10 Zwischengruppen enthalten, so daß insgesamt eine räumlich
symmetrische oder annähernd oder teilweise symmetrische
Gesamtverbindung entsteht, wobei die verwendeten
Verbindungen zwei Statinreste mit entgegengesetzter
15 Konfiguration oder zwei entsprechend verwandte Verbindungen
mit oder ohne Zwischengruppen enthalten können.
Die verwendeten Verbindungen können zwei Statinreste oder
zwei entsprechend verwandte Verbindungen mit oder ohne
20 Zwischengruppen enthalten, wobei einer der Statinreste
endständig ist, um die freie Drehbarkeit der Bindungen zu
gewährleisten, so daß die Einnahme einer räumlich
symmetrischen oder annähernd symmetrischen oder teilweise
symmetrischen Konformation der Gesamtverbindung erleichtert
wird.

25 Wenn in den verwendeten Verbindungen wie im Normalfall ein
Teil der Peptidkette aus Aminosäureresten einer einzigen
räumlichen Konfiguration (z.B. L-Form) besteht, muß die
andere Hälfte aus Aminosäuren der umgekehrten Konfiguration
bestehen, um einen hinreichend symmetrischen Inhibitor zu
erzeugen. Hier sind folgende Beispiele bevorzugt:

(L)-C-(L)-B-(L)-A-(D)-A-(D)-B-(D)-C
oder
(D)-C-(D)-B-(D)-A-(L)-A-(L)-B-(L)-C
35 wobei A, B, C Aminosäurereste darstellen.

1 In den verwendeten Verbindungen kann an ein Peptid oder an
eine peptidähnliche Verbindung ein Nichtpeptidrest so
gebunden werden, daß eine annähernd symmetrische oder
teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. in
5 bezug auf eine oder mehrere physikalisch-chemische
Eigenschaften wie Ladung, Hydrophilizität, Hydrophobizität
oder Größe der Seitenkette bzw. des Restes, oder in den
verwendeten Verbindungen ist an ein Peptid oder an eine
peptidähnliche Verbindung oder an ein Peptid mit einer
10 zentralen organisch-chemischen Gruppe eine Seitenkette oder
ein Nichtpeptidrest so gebunden, z.B. entsprechend den
Formeln B-A-M-A-R oder R-B-A-M-A oder R-C-B-A-B-A oder
B-A-M-R,
wobei A, B, C, D, Aminosäurereste, M eine zentrale
organisch-chemische Gruppe und R einen organischen Rest
15 darstellt, dergestalt, daß insgesamt eine räumlich annähernd
symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung
entsteht, z.B. in bezug auf eine oder mehrere
physikalisch-chemische Eigenschaften, wie Ladung,
20 Hydrophilizität, Hydrophobizität oder Größe der Seitenkette
bzw. des Restes.
Es können aber an ein symmetrisches oder teilweise
symmetrisches oder annähernd symmetrisches Peptid oder eine
peptidähnliche Verbindung chemisch reaktive Reste, z.B.
25 entsprechend den Formeln XCH_2CO- , N_2CHCO- , $NC-CH_2-CO-$,
 RO_2C- , CH_2-CR- , RO_nS- , $HS-$, $RO(H_2N)C^+$, so
gebunden sein, daß die Verbindungen vom Zielenzym reversibel
oder irreversibel gebunden werden können. Auch hier bedeutet
n die Zahl 1 oder 2 und R ist ein üblicher Esterrest, wie
30 schon früher angegeben.
Die verwendeten Verbindungen können auch Aminosäuresequenzen
der Enzyme oder Proteine enthalten, die für die Assoziation
ihrer Untereinheiten oder Teilstrukturen oder die Stabilität
oder strukturelle Anordnung der funktionierenden Enzyme und
35 Proteine mitverantwortlich sind, oder verwandte oder

1 ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste besitzen, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzyme oder Proteine beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität oder ihre Funktion beeinträchtigen oder ihre Bildung verändern können. Hierbei können die verwendeten Verbindungen

5 Aminosäuresequenzen oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste der HIV-Protease enthalten, die für die Assoziation der Untereinheiten des Enzyms und die Bildung oder den Zusammenhalt des funktionierenden Enzymkomplexes mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzymkomplexe beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität verringern oder ihre Bildung verhindern können.

15 Die verwendeten Verbindungen können vorzugsweise die Aminosäuresequenz Trp-Lys-Pro-Lys-Met-Ile-Gly-Ile-Gly-Gly-Phe-Ile-Lys-Val-Arg; Gln-Ile-Leu-Ile-Glu-Cys; Val-Gly-Pro-Thr-Pro-Val-Asn; Ile-Gly-Arg-Asn; Ala-Gly-Arg-Asn-Leu-Leu-Thr-Gln-Ile oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste oder Teile daraus enthalten, die für die Assoziation der Untereinheiten der HIV-Protease und die Bildung oder den Zusammenhalt des funktionierenden Enzymkomplexes mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzymkomplexe beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität verringern oder ihre Bildung verhindern können.

20 Auf diese Weise kann also Struktur und/oder die Wirkung von Enzymen, die eine gewisse Symmetrie haben, indem sie aus gleichen oder ungleichen Untereinheiten bestehen, insbesondere von Enzymen von pathogenen Bakterien oder Viren

35

1 oder von körpereigenen Enzymen in pathologischen Zuständen, durch stabile organisch-chemische Verbindungen gehemmt werden, was zur Therapie dienen kann, wenn die verwendeten Verbindungen Aminosäuresequenzen der strukturell unsymmetrischen komplexen Zielenzyme oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste enthalten, die für die Assoziation der Untereinheiten der Enzyme und die Bildung und den Zusammenhang der funktionierenden Enzymkomplexe mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Bildung oder den Zusammenhalt oder die Stabilität der Enzymkomplexe stören und ihre Aktivität beeinträchtigen oder verhindern können.

5

10

15

20

25

30

35

ERSATZBLATT

Day post infection	A 1000 µM				B 1000 µM				Reverse Transcriptase Determination (epm/ml)			
	1000 µM	100 µM	10 µM	1 µM	0.1 µM	1000 µM	100 µM	10 µM	1 µM	0.1 µM	no inhibitor	12
HIV Control 1	12401	4183	23708	18921	165540	12401	4183	23708	18921	165540	9	12
HIV Control 2	1529	5378	6407	2121	1550	3441	4033	4418	4188	3006	6180	10
	1529	5378	6407	2121	1550	3441	4033	4418	4188	3006	6180	15
	1529	5378	6407	2121	1550	3441	4033	4418	4188	3006	6180	20
	1529	5378	6407	2121	1550	3441	4033	4418	4188	3006	6180	25
	1529	5378	6407	2121	1550	3441	4033	4418	4188	3006	6180	30
	1529	5378	6407	2121	1550	3441	4033	4418	4188	3006	6180	35

-30-

WO 90/09191

PCT/EP90/00219

ERSATZBLATT

Day post infection	C 1000 µM				D 1000 µM - Not tested				Reverse Transcriptase Determination (epm/ml)			
	1000 µM	100 µM	10 µM	1 µM	0.1 µM	1000 µM	100 µM	10 µM	1 µM	0.1 µM	no inhibitor	12
HIV Control 1	12401	4183	23708	18921	165540	12401	4183	23708	18921	165540	9	12
HIV Control 2	7646	3838	6370	4308	5343	7646	3838	6370	4308	5343	9	12
	7646	3838	6370	4308	5343	7646	3838	6370	4308	5343	9	15
	7646	3838	6370	4308	5343	7646	3838	6370	4308	5343	9	20
	7646	3838	6370	4308	5343	7646	3838	6370	4308	5343	9	25
	7646	3838	6370	4308	5343	7646	3838	6370	4308	5343	9	30
	7646	3838	6370	4308	5343	7646	3838	6370	4308	5343	9	35

-31-

WO 90/09191

PCT/EP90/00219

Day post infection	HIV Control 1	HIV Control 2	16 1000 µM	16 100 µM	10 µM	1 µM	0,1 µM	17 1000 µM	17 100 µM	10 µM	1 µM	0,1 µM
	12401	4183	3344	3099	4537	3155	5487	4859	3770	4854	2955	3328
	23708	30094	5760	3709	5825	1663	982	5194	5958	8069	7606	5959
	18921	13680	9748	10344	4340	6595	2994	3874	6656	3925	4279	93946
no inhibitor	165540	168620	151010	97040	153830	201520	149330	129790	129730	164570	122840	93946
12												
9												

Conclusion: All substances tested showed a significant inhibitory effect on HIV-1 replication as measured by total antigen production or by reverse transcriptase measurement of released virus. This effect was reversible as virus production quickly returned to control levels after removal of inhibitor from infected cells.

-32-

WO 90/06191

PCT/EP90/00219

Day post infection		HIV Control 1		HIV Control 2		A 1000 µM		100 µM		10 µM		1 µM		0,1 µM		C 1000 µM		100 µM		10 µM		1 µM		0,1 µM	
1	0,075	0,059	0,068	0,059	0,053	0,080	0,182	0,811	0,498	0,748	1,052	1,038	1,017	0,074	0,062	0,063	0,071	0,053	0,064	0,056	0,062	0,061	0,054	0,069	0,062
2																									
3																									
4																									
5																									
6																									
7																									
8																									
9																									
12																									

1. Mittel zur Hemmung von symmetrischen Proteinen, insbesondere Enzymen, insbesondere zur Inhibierung der HIV-Protease, in Form von strukturell symmetrisch oder fast symmetrisch gebauten Enzyminhibitoren, dadurch gekennzeichnet, daß diese Enzyminhibitoren solche sind, deren Molekül in bezug auf das zu hemmende Enzymmolekül strukturell gleich-symmetrisch oder teilweise oder annähernd, jedoch zur Hemmung hinreichend, symmetrisch ist.

2. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Inhibitoren organisch-chemische Verbindungen, insbesondere Peptide sind oder peptidähnliche Struktur haben und eine zentrale organisch-chemische Gruppe M aufweisen, an die als Seitenketten organische Reste gebunden sind, insbesondere Aminosäuren oder Aminosäurenderivate, Monosaccharide oder deren Derivate oder Fettsäurereste oder ihre Derivate, insbesondere Peptide, die jeweils gleich oder annähernd gleich und in bezug auf die Gruppe M symmetrisch oder annähernd symmetrisch sind.

3. Mittel nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß für die Hemmung von Proteinasen die Hemmverbindungen anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine nichtspaltbare Bindung besitzen.

4. Mittel nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Hemmverbindungen bei sonst sehr substratähnlicher Struktur anstelle der spaltbaren -CONH-Peptidbindung eine nicht oder schwerspaltbare -NHCO-Bindung (also mit umgekehrter Richtung) besitzen.

Day post infection	D 1000 µm - not tested									
1	0,067	0,068	0,064	0,060	0,057	0,055	0,051	0,054	0,057	0,060
2	0,067	0,066	0,072	0,060	0,055	0,055	0,055	0,044	0,057	0,057
3	0,068	0,066	0,072	0,060	0,055	0,055	0,055	0,044	0,057	0,057
4	0,068	0,060	0,060	0,060	0,059	0,059	0,053	0,057	0,057	0,050
5	0,079	0,081	0,079	0,079	0,086	0,084	0,107	0,124	0,115	0,094
6	0,175	0,218	0,175	0,175	0,258	0,258	0,308	0,458	0,266	0,397
7	0,369	0,368	0,369	0,369	0,354	0,354	0,308	0,464	0,225	0,584
8	0,854	0,886	0,854	0,854	0,906	0,905	0,905	0,907	0,870	0,989
9	1,031	0,975	1,031	0,996	0,975	0,975	1,050	1,059	1,002	1,002
10	100 µm	10 µm	1 µm	0,1 µm	0,076	0,055	0,062	0,051	0,065	0,048
100 µm	0,063	0,058	0,064	0,050	0,052	0,058	0,050	0,055	0,043	0,049
10 µm	0,065	0,066	0,066	0,064	0,069	0,069	0,055	0,059	0,058	0,056
1 µm	0,066	0,056	0,056	0,064	0,056	0,056	0,055	0,058	0,051	0,051
0,1 µm	0,058	0,064	0,045	0,043	0,053	0,115	0,266	0,525	0,870	0,984
17 1000 µm	0,055	0,063	0,042	0,048	0,049	0,094	0,397	0,584	0,989	1,002
100 µm	0,064	0,059	0,069	0,056	0,056	0,100	0,407	0,547	0,924	1,060
10 µm	0,065	0,026	0,062	0,061	0,059	0,127	0,336	0,439	-	1,001
1 µm	0,067	0,061	0,068	0,051	0,058	0,149	0,354	0,367	0,891	1,020
0,1 µm	0,060	0,057	0,063	0,046	0,050	0,121	0,464	0,434	0,984	1,066

5 Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Hemmverbindungen zentrale organisch-chemische Gruppen besitzen, die zwei identische oder in ihrer Funktion äquivalente organische Substituenten aufweisen, die mit zwei identischen oder teilweise identischen Peptiden oder peptidähnlichen Verbindungen oder Fettsäuren bis C₁₂ so reagieren können, daß eine symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht.

10

6. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß in den Hemmverbindungen an eine zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei ungleichen Substituenten zwei gleiche oder annähernd gleiche oder sich entsprechende Peptide oder peptidähnliche Verbindungen so gebunden sind, daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht.

20

7. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß in den verwendeten Hemmverbindungen ein Teil der Peptidkette aus Aminosäureresten einer räumlichen Konfiguration besteht, während die andere Hälfte aus Aminosäuren der umgekehrten Konfiguration besteht, so daß eine symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung vorliegt.

25

8. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die verwendeten Hemmverbindungen im Falle der HIV-Protease die Aminosäuresequenz Asp-Thr-Gly oder Asp-Ser-Gly oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste

35

1 enthalten, die im Zielenzym zur Bildung eines funktionellen aktiven Zentrums aus gleichen oder entsprechenden Teilen verschiedener Untereinheiten der komplexen Enzyme beitragen oder verantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder die Stabilität des aktiven Zentrums beeinträchtigen oder die Bildung des aktiven Enzyms verhindern können.

5

9. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die verwendeten Hemmverbindungen im Falle der HIV-Protease die Aminosäuresequenzen Ile-Gly-Arg-Asn, Trp-Lys-Pro-Lys-Met-Ile-Gly-Gly-Ile-Gly-

10

Gly-Phe-Ile-Lys-Val-Arg; Gln-Ile-Leu-Ile-Glu-Cys; Val-Gly-Pro-Thr-Pro-Val-Asn; Ile-Gly-Arg-Asn; Ala-Gly-Arg-Asn-Leu-Leu-Thr-Gln-Ile oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche

15

organisch-chemische Reste enthalten, die im Zielenzym zur Bildung eines funktionellen aktiven Zentrums aus gleichen oder entsprechenden Teilen verschiedener Untereinheiten der komplexen Enzyme beitragen oder verantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder die Stabilität des aktiven Zentrums beeinträchtigen oder die Bildung des aktiven Enzyms verhindern können.

20

25

30

35

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/EP 90/00219

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
According to International Patent Classification (IPC) or to both International Classification and IPC

Int.Cl. 5 A 61 K 37/64, C 07 K 5/02, 7/02

II. FIELDS SEARCHED

Classification System Minimum Documentation Searched
Classification Symbols

Int.Cl. 5 A 61 K, C 07 K

Documentation Searched other than Minimum Documentation
to the extent that such Documents are included in the Fields Searched

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No. 10
A	The Journal of Biological Chemistry, volume 263, No. 34, 5 December 1988 (Baltimore, MD, US) S. Billich et al.: "Synthetic peptides as substrates and inhibitors of human immune deficiency virus-1 protease" pages 17905-17908 (cited in the application)	1-9
A	Biochemistry, volume 26, No. 18, 8 September 1987 (Easton, PA, US) T.L. Blurcell et al.: "On the rational design of renin inhibitors: X-ray studies of aspartic proteinases complexed with transition-state analogues", pages 5585-5590	1-9
P, X	FEBS Letters, volume 247, No 1, April 1989, (Amsterdam, NL) I.V. Pechik et al.: "Possible role of some groups in the structure and function of HIV-1 protease as revealed by molecular modeling studies", pages 118-122, see page 121, right hand column.	1-3

* Special categories of cited documents: "A" document published after the international filing date, but prior to the date of the international search report, which is cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may have three doubts on priority claim(s) or which is cited for special reasons (as described in the "Remarks" section)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"X" document member of the same patent family

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report
9 May 1990 (09.05.90)	14 June 1990 (14.06.90)
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer
European Patent Office	

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No.
	line 27 - page 122, left hand column	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationale Anmeldungen PCT/EP 90/00219

I. KLASSEMENT DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifizierungsmöglichkeiten sind alle anzugeben)	
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC	
Int.Cl. ⁵ A 61 K 37/64, C 07 K 5/02, 7/02	
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE	
Klassifikationsnummern	Recherchierte Mindestpflicht
Klassifikationsnummern	
Int.Cl. ⁵	A 61 K, C 07 K
Recherchierte nicht zum Mindestumfang gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen	
III. EINZELNIGE VERÖFFENTLICHUNGEN	
Art	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹⁾ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²
A	The Journal of Biological Chemistry, Band 263, Nr. 34, 5. Dezember 1988 (Baltimore, MD, US) S. Billich et al.: "Synthetic peptides as substrates and inhibitors of human immune deficiency virus-1 protease" (In der Anmeldung erwähnt) Seiten 17905-17908
A	Biochemistry, Band 26, Nr. 18, 8. September 1987 (Easton, PA, US) T.L. Blundell et al.: "On the rational design of renin inhibitors: X-ray studies of aspartic proteinases complexed with transition-state analogues", Seiten 5585-5590
P, X	FEDS Letters, Band 247, Nr. 1, April 1989, (Amsterdam, NL) I.V. Fehik et al.: "Possible role of some
<p>¹⁾ Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam angesehen ist</p> <p>"E" Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zu begründen, aber nicht als Prioritätsanspruch anerkannt wird</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mögliche Offenbarung, die nicht als Prioritätsanspruch anerkannt wird, bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>¹²⁾ Solange Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis der Erfindung zugrundeliegenden Prinzipien oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>	
IV. BESCHREIBUNG	
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	
9. Mai 1990	
Internationale Recherchebehörde	
Europäisches Patentamt	
Aberratum des internationalen Rechercheberichts	
9. Mai 1990	
Unterschrift des benachteiligten Bediensteten	
C. D. v. d. VIET	

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Januar 1989)

Internationale Anmeldungen PCT/EP 90/00219

III. EINZELNIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)

Art Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile Betr. Anspruch Nr.

groups in the structure and function of HIV-1 protease as revealed by molecular modeling studies",
Seiten 118-122, siehe Seite 121, rechte Spalte, Zeile 27 - Seite 122, linke Spalte, Zeile 7

Formblatt PCT/ISA/210 (Dauerbogen) Januar 1989